

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA

CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
**DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA**



**Efeito da utilização de probiótico sobre aspectos microbiológicos e parâmetros de qualidade da água e produtividade em viveiros de cultivo de camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Aquicultura, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Aquicultura.

**Orientador:** Dr. Edemar Roberto Andreatta

**Co-orientador:** Cleide Rosana V. Batista PhD

Paulo José Mendonça Padilha

Florianópolis  
2005

Padilha, Paulo José Mendonça

Efeito da utilização de probiótico sobre aspectos microbiológicos e parâmetros de qualidade da água e produtividade em viveiros de cultivo de camarão marinho *Litopenaeus vannamei* / Paulo José Mendonça Padilha - - Florianópolis, 2005.

29p.: il.

Dissertação (Mestrado) – Prof. Orientador: Dr. Edemar Roberto Andreatta - - Universidade Federal de Santa Catarina, 2005.

Bibliografia.

1. Probiótico 2. Aquicultura 3. Camarão 4. Microbiologia.

**Efeito da utilização de probiótico sobre aspectos microbiológicos e parâmetros de qualidade da água e produtividade aquática em viveiros de cultivo de camarões marinhos (*Litopenaeus vannamei*).**

**Por**

**Paulo José Mendonça Padilha**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de  
Pós-Graduação em Aquicultura.

---

Profa. Débora Machado Fracalossi, Dra.  
Coordenadora do Curso

Banca Examinadora:

---

Dr. Edemar Roberto Andreatta - *Orientador*

---

Dra. Cleide Rosana Vieira Batista

---

Dr. Paulo Cesar Oliveira Vergne de Abreu

**À minha esposa Maria de Lourdes  
companheira de todas as horas**

## **Agradecimentos**

À EPAGRI e seus dirigentes pela liberação que tornou possível a realização do curso

À Universidade Federal de Santa Catarina, seus professores e funcionários.

Ao professor Dr Edemar Roberto Andreatta pela orientação e amizade

À professora Dra Cleide Rosana Vieira Batista pela cessão do laboratório e pelos ensinamentos na área de microbiologia.

Aos colegas Albertino Zampareti e Sergio Winkler pelo apoio e sugestões apresentadas

À colega Sara Fabiana pelo apoio durante os trabalhos no laboratório de microbiologia

Ao Dr Walter Quadros Seiffert pela utilização da estrutura da Fazenda Yakult e todo o apoio prestado durante a fase de campo necessária para a execução do experimento

Aos funcionários da Fazenda Yakult sem cujo apoio o experimento não seria possível

Ao Carlito da secretaria do curso , pelo bom atendimento

## Sumário

<u>Resumo</u> .....	v
<u>Abstract</u> .....	vi
<u>Introdução</u> .....	1
1 – A carcinicultura e sua importância no país e estado.....	1
2 – A importância do manejo.....	2
3 – A importância da microbiologia.....	3
4 – Uso de probiótico.....	4
<u>Objetivo geral</u> .....	6
<u>Objetivo específico</u> .....	6
<u>Efeito da utilização de probiótico sobre aspectos microbiológicos e parâmetros de qualidade da água e produtividade em viveiros de cultivo de camarão marinho ( <i>Litopenaeus vannamei</i>)</u> .....	7
Resumo.....	7
1 – introdução.....	8
2 - materiais e métodos .....	10
3 – resultados e discussão.....	12
4 – conclusões.....	20
5 – referências bibliográficas.....	21
Referências bibliográficas da introdução.....	22

## RESUMO

Foi realizado estudo sobre a influência de um probiótico no cultivo de camarão (*Litopenaeus vannamei*) em viveiros de 1,25 ha em solo natural. Utilizou-se 2 tratamentos, sendo T1 com adição de probiótico e T2 sem adição. Realizado em triplicata e estocados com 21 juvenis de 3g/m<sup>2</sup>. O experimento foi conduzido no município de Barra do Sul, SC, Brasil, durante um período de cultivo correspondendo aos meses de fevereiro á junho de 2004. Foram analisados os parâmetros microbiológicos: contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos, bactérias ácido lácticas, bolores e leveduras, *vibrio* sp e coliformes termotolerantes segundo metodologia APHA 2001. Entre os parâmetros físico-químicos: amônia, nitrito, nitrato. Os índices de produtividade foram comparados. As coletas para os parâmetros microbiológicos aconteceram a cada 15 dias. Determinação de amônia, nitrito e nitrato, 2 vezes por semana. Para parâmetros microbiológicos foi observada a variação da população ao longo do cultivo, não havendo diferenças entre tratamentos. Para físico-químicos as curvas ficaram sobrepostas para T1 e T2 evidenciando não haver influência do probiótico. Estes parâmetros mantiveram-se dentro de níveis adequados para a espécie durante todo o ciclo. Os resultados de produtividade para T1 foram: 2417,6 kg/ha ( $\pm 478,82$ ), TCA de 1,89 ( $\pm 0,27$ ), sobrevivência de 82,3% ( $\pm 19,3$ ), peso médio final de 14,2 gr ( $\pm 0,72$ ). Para T2 os resultados foram respectivamente: 2444,6 kg/ha ( $\pm 498,53$ ), TCA de 1,98 ( $\pm 0,22$ ), sobrevivência de 83,0% ( $\pm 14,73$ ) e peso médio final de 13,8 gr ( $\pm 1,58$ ), não mostrando diferença estatística. Observou-se, nas condições do teste, que o probiótico não influenciou qualquer dos parâmetros medidos.

## ABSTRACT

Effects of utilization of probiotic over the aspects microbiological and water quality parameters and the productivity in pond of sea shrimp cultivation *Litopenaeus vannamei*.

A study was made about the influence of a probiotic on the shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultivation in ponds of 1,25 in natural soil. We utilized 2 treatments, being T1 with addition of probiotic and T2 without it. Realized in triplicate and stored with 21 juvenis/m<sup>2</sup>. The experiment was conducted over the city of Barra do Sul ,SC , Brazil , during a period of cultivation corresponding from February to June of 2004. The micro biologics parameters were analyzed: standards of countings in plaque of micro organisms mesophilos, lactic acid, yeast and vibrio sp and coliforms thermotolerating accordind to APHA 2001 methodology. Amid the chemical-physics: ammonia, nitrite, nitrate. The productivity indexes were compared. The collects of micro biologics happened every 15 days. Determinations of ammonia, nitrite and nitrate, twice a week. To micro biologics parameters were observed the variation of the population during the cultivation not presenting differences between the treatments. To chemical-physics the curves were trimmed to T1 and T2 evidencing the inexistence of probiotics' influence. These parameters kept it in the appropriate levels for the specie during the whole cycle. The results of productivity to T1 were: 2417,6 kg/ha ( $\pm 478,82$ ), Tax of food conversion ( TFC) of 1,89 ( $\pm 0,27$ ), survival of 82,3% ( $\pm 19,3$ ), final medium weight of 14,2 gr ( $\pm 0,72$ ). To T2 the results were respectively : 2444,6 kg/ha ( $\pm 498,53$ ), TFC of 1,98 ( $\pm 0,22$ ), survival of 83,0% ( $\pm 14,73$ ) and final medium weight of 13,8 gr ( $\pm 1,58$ ), not showing statistic difference. No relations, over the conditions of the tests, between the application of probiotic and the parameters measured were observed.



## INTRODUÇÃO

### 1-A carcinicultura e a sua importância no país e no estado

A aquicultura é uma das atividades que mais têm crescido no Brasil, chegando a ter um incremento de 20% ao ano, sendo que um dos setores dentro desta atividade que têm se destacado é a carcinicultura, cujas exportações em 2001 chegaram a aproximadamente US\$ 130 milhões (Rocha 2004).

Em Santa Catarina, a carcinicultura vêm se desenvolvendo principalmente no sul do estado, ao redor do complexo Lagunar, abrangendo os municípios de Laguna, Imbituba, Jaguaruna e Imaruí. Este crescimento vem acontecendo desde 1999, quando da introdução do *Litopenaeus vannamei*. A produtividade que, inicialmente, era de 1.000 kg/ha/ciclo, aumentou rapidamente e em alguns casos a produtividade chega a 3.000 kg/ha/ciclo, resultado do melhoramento das técnicas de cultivo introduzidas por técnicos da Epagri e UFSC. (EPAGRI, UFSC, dados não publicados).

No estado temos atualmente 1600 ha de cultivo, distribuídos em 105 fazendas e com produção de 3500 t de produto em 2003 (EPAGRI, UFSC, dados não publicados), permitindo um faturamento bruto aproximado de R\$ 35 milhões, dinheiro este que entrou na economia do estado no último ano, com a geração crescente de oferta de postos de trabalho em toda a cadeia produtiva.

Com a implantação de novos viveiros, no mês de janeiro 2004 a área estadual de cultivo passou para 1600 ha (Andreatta, comunicação pessoal), o que considerando as estimativas de Itamar Rocha, citado por Figueiredo (2003), de 3.8 empregos gerados por ha de cultivo daria um total de 5320 postos de trabalho.

Somente a região lagunar possui um potencial de cultivo de 5.000 ha, podendo chegar, portanto, a uma produção de 32.000 t/ano. Tudo isso mostra a importância, tanto econômica quanto social, da atividade da carcinicultura para a região e para todo estado.

## **2- Importância do manejo.**

Esse desenvolvimento não pode acontecer se vier a penalizar o meio ambiente nos locais de implantação dos criadouros, sendo necessária a substituição de práticas de cultivo, como o sistema de fluxo contínuo que promove a substituição parcial da água diariamente por sistemas mais adequados, como o de troca mínima de água e ou reciclagem da água utilizada no próprio viveiro.

As enfermidades, também constituem uma preocupação constante para técnicos e produtores. A entrada dessas no estado poderia comprometer a atividade e gerar grandes prejuízos econômicos, pois a atividade já se tornou importante neste aspecto e haveria um conseqüente prejuízo financeiro com perdas de postos de trabalho e geração de problemas sociais.

Com o crescimento da atividade na região de Laguna – SC, houve a necessidade de aplicação de técnicas de cultivo que maximizassem a produção, mantivessem a sanidade e controlassem problemas ocorridos nesses viveiros. Uma das técnicas utilizadas foi a adição de probióticos, inicialmente utilizado em uma propriedade no município de Jaguaruna para tentar resolver problemas de mortalidade que vinham ocorrendo. Esta técnica se mostrou promissora possibilitando que ocorressem colheitas com boa produtividade nos cultivos seguintes. No entanto se mostrou uma técnica de alto custo que poderia comprometer o lucro final da propriedade, obrigando a procura por produtos alternativos.

Uma alternativa de baixo custo foi apresentada na forma de um probiótico já largamente utilizado em agricultura alternativa e que alguns testes preliminares mostravam potencial para aqüicultura. Este produto o EM-4 passou a ser utilizado no lugar do probiótico convencional, com aparentes bons resultados tendo seu uso se disseminado pela região.

De acordo com o manual do produto ele é constituído de um conjunto de microorganismos dos grupos das leveduras, bactérias ácido-lácticas e fototróficas.

Com o presente trabalho buscou-se verificar se a adição desse probiótico ao meio de cultivo poderia interferir no desenvolvimento da microbiota presente e que fosse adequada a reciclagem de nutrientes e para a manutenção de parâmetros físico-químicos dentro das necessidades da espécie, o que resultaria em maiores produtividades.

### **3 – Importância da microbiologia.**

Para a manutenção da sanidade dos viveiros várias práticas devem ser adotadas com vistas à manutenção da qualidade da água e evitar estresse dos animais, o que poderia provocar o aparecimento de patógenos oportunistas. Dentre estas práticas temos a manutenção das densidades adequadas nos cultivos, um bom manejo da alimentação, aeração adequada, construção em locais que garantam fornecimento de água de qualidade, pessoal treinado e manutenção de uma microbiota que seja favorável ao desenvolvimento dos animais e equilíbrio do meio de cultivo.

A manutenção de uma microbiota adequada se reveste de importância no reaproveitamento de nutrientes (reciclagem), para manutenção de boa qualidade da água de cultivo e para impedir a entrada e ou condições de desenvolvimento de organismos patogênicos ao camarão cultivado ou que contaminem o produto e que venham causar problemas à saúde do consumidor.

O aumento da densidade de cultivo, que no estado iniciou com 15 camarões por m<sup>2</sup> passando atualmente a 25 – 30 camarões por m<sup>2</sup> (EPAGRI, UFSC), tem resultado no aumento da biomassa orgânica nos viveiros de cultivo. O aumento dessa biomassa, em viveiros de cultivo, resulta em uma comunidade microbiana abundante (Blackall e Baiano, 2002), que se caracteriza pela habilidade de levar a cabo diversos processos bioquímicos vitais para a regulação ambiental e interagindo com o organismo de cultivo. Tanto negativamente, como no caso das enfermidades, como positivamente como nas interações nutricionais (Douillet, 1997). Esta comunidade tem varias funções importantes na aquicultura. No que diz respeito a produtividade ciclo de nutrientes, nutrição dos animais cultivados qualidade da água e dos efluentes (Moriarty, 1997). Este mesmo autor, estudando a microbiologia em cultivos, encontrou que o tempo que as bactérias levam para dobrar sua população em viveiros que recebem ração, é de apenas 6 horas, podendo ser importante fonte de alimento .

Espécies aquáticas excretam amônia como resultado de seu metabolismo (Barbieri e Ostrensky, 2002) e que em altos níveis são tóxicos para estas espécies. Este fato exige constantes monitoramentos e trocas de água para manter os seus níveis baixos, o que leva a uma pressão sobre o ambiente estuarino de onde esta água é captada e/ou descartada. O íon amônio pode ser utilizado como fonte de nitrogênio pelo fitoplâncton, e por bactérias heterotróficas que podem chegar a consumir até 50% do amônio dissolvido na água (Velasco, 2000) o que mostra a importância desses microorganismos para a boa qualidade do meio de cultivo.

Outra fonte de deterioração do meio é a ração não consumida ou a que é eliminada sem ser digerida. Neste caso, microorganismos podem usar de forma altamente eficiente este desperdício e podem se transformar em alimentos para os animais cultivados (Horowitz e Horowitz, 2000), proporcionando uma melhor conversão alimentar, com conseqüente redução dos custos. Esta comunidade deve ser manejada para permitir que somente organismos não patogênicos e benéficos ao cultivo venham a se estabelecer.

As principais bactérias, normalmente encontradas em aquicultura, são: *Vibrios*, *Pseudomonas*, *Flavobacterium*, *Pseudoalteromonas* e *Acinetobacter* (Maeda, 2002). O *Vibrio* é uma espécie patogênica oportunista que cresce de forma rápida em função de sua habilidade em se adaptar as condições de baixa disponibilidade de oxigênio (Maeda, 2002), o que comumente ocorre em tanques de cultivo mal manejados.

#### **4- Uso de probiótico.**

Uma das medidas para manutenção de organismos desejáveis é o uso de probióticos que poderiam controlar a ocorrência de microorganismos patogênicos e ou indesejáveis pela competição por nutrientes e atividades predatórias (Decamp et al, 2002).

Verschuere et al (2000) sugerem a seguinte definição de probiótico para aquicultura: “Suplemento microbiano vivo com efeitos benéficos para o hospedeiro, pela modificação de sua comunidade microbiana associada e para o ambiente de cultivo, assegurando melhoria no uso do alimento artificial e de seu valor nutricional, melhorando a resposta do hospedeiro a doenças e também a qualidade do ambiente”.

O uso desses produtos microbianos em viveiros da aquicultura tem crescido rapidamente como estratégia de manejo de doenças (Gatesoupe, 1999). No entanto alguns autores consideram que os efeitos benéficos desses produtos na aquicultura são contestáveis e desta forma sua eficiência é incerta (Devaraja et al, 2002).

Os cultivos com probióticos podem ser divididos em monocultivos que consistem de uma única cepa de bactérias, normalmente uma bactéria ácida, ou cultivos mistos que contém duas ou mais espécies (Garlich, 1999).

A adição de probióticos ao meio de cultivo deve ser constante pois as condições do meio sofrem mudanças periódicas, conforme o crescimento dos camarões, mudanças na salinidade, temperatura, variações no oxigênio dissolvido, o que muda as condições do meio que são propícias aos diferentes organismos, com conseqüentes mudanças nas espécies dominantes, o que poderia levar a perda de efeito do produto. Probióticos devem ser efetivos entre extremos de

temperatura e variações de salinidade (Salminen et al, 1999, apud Irianto e Austin, 2002). Douillet (1997) cita os estudos de Maeda e Nogami (1989) onde a cepa PM-4 controla por meio da produção de antibióticos a proliferação de *Vibrios* em cultivos de larva de caranguejo, e onde a não aplicação diária do produto pode causar a mortalidade de todas as larvas pelo aumento na densidade de *Vibrios*.

Os microorganismos presentes no meio de cultivo costumam ser os mesmos presentes nos camarões sendo que esses animais são pecilotérmicos e portanto, estando sujeitos as mesmas mudanças na sua microbiota interna, com a mudança na temperatura. (Léssel, 1990., Ringo e Stron 1994.,Moriaty ,1990..Apud Gatesoupe, 1999). Na escolha do probiótico a ser utilizado deve-se, portanto considerar a variedade de microorganismos presentes. O uso de produto com uma única espécie de microorganismo para dominar o sistema microbiológico aquático é de alto risco, pois leva a uma reduzida biodiversidade o que conseqüentemente aumenta o risco de patógenos oportunistas tomarem o nicho da bactéria probiótica, quando as condições favoráveis a esse microorganismo sofrem mudanças (Maeda , 2002) .

Zamora et al (2001) utilizaram microorganismos de cultivo misto (EM) na produção de camarão, obtendo um menor custo de produção, menor tempo de cultivo e uso mais racional da água com apenas a reposição da evaporação.

Douillet (1997) observa que “A ecologia microbiana em sistemas de cultivo é complexa e desconhecida e que dada sua influência na produção de diversas espécies e sua contribuição no êxito de cultivos, é o manejo dessa ecologia uma das atuais alternativas mais importantes para melhorar os sistemas de produção”.

Com o intuito de verificar a eficiência da utilização de probióticos no manejo da microbiologia do meio de cultivo e sua conseqüência nos parâmetros físicos químicos e na produção dos viveiros, foi realizado um estudo utilizando aplicação de probiótico comercial EM-4 em viveiros de cultivo de camarão *Litopenaeus vannamei* .

Espera-se com este trabalho contribuir para um melhor entendimento do manejo microbiano, o que possibilitaria a utilização de técnicas de cultivo mais econômicas e com pouca pressão sobre o ambiente, possibilitando menores taxas de renovação de água. Com isso teríamos melhor aproveitamento da alimentação pois cada renovação leva também a perdas por nutrientes que poderiam ser reciclados. Um entendimento da microbiologia possibilitaria ainda um melhor manejo desta em relação ao controle de patógenos oportunistas e a obtenção de técnicas de cultivo que venham a melhorar o resultado das fazendas de criação e garantir a sustentabilidade da atividade.

### **OBJETIVO GERAL**

Contribuir para o conhecimento da microbiologia dos viveiros de produção de camarões para a melhoria dos parâmetros de qualidade de água e da produtividade.

### **OBJETIVO ESPECÍFICO**

Verificar a ação do probiótico EM-4 sobre a população de vibrionáceas, das bactérias ácido-láticas, dos microrganismos mesófilos, dos bolores e leveduras, coliforme termotolerantes , e sobre os parâmetros físico-químicos durante o cultivo e sobre a produtividade.

O resultado deste estudo está apresentado na forma de artigo científico, seguindo as normas da revista Aquaculture, o qual será posteriormente submetido a publicação.

## Efeito da utilização de probiótico sobre aspectos microbiológicos e parâmetros de qualidade da água e produtividade em viveiros de cultivo do camarão marinho *Litopenaeus vannamei*.

Paulo José M. Padilha<sup>1\*</sup>, Edegar Roberto Andreatta<sup>2</sup>, Sara Fabiana B. Aguiar<sup>3</sup>, Cleide Rosana V. Batista<sup>3</sup>.

1-Epagri -Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina, Brasil.

2-Laboratório de Camarões Marinhos, Departamento de Aqüicultura, Universidade Federal De Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

3-Núcleo de Microbiologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, Santa Catarina, Brasil.

**RESUMO:** Foi realizado estudo sobre a influência de um probiótico no cultivo de camarão (*Litopenaeus vannamei*) em viveiros de 1,25 ha em solo natural. Utilizou-se 2 tratamentos, sendo T1 com adição de probiótico e T2 sem adição. Realizado em triplicata e estocados com 21 juvenis de 3g/m<sup>2</sup>. O experimento foi conduzido no município de Barra do Sul, SC, Brasil, durante um período de cultivo correspondendo aos meses de fevereiro a junho de 2004. Foram analisados os parâmetros microbiológicos: contagem padrão em placas de microrganismos mesófilos, bactérias ácido lácticas, bolores e leveduras, *vibrio* sp e coliformes termotolerantes segundo metodologia APHA 2001. Entre os parâmetros físico-químicos: amônia, nitrito, nitrato. Os índices de produtividade foram comparados. As coletas para os parâmetros microbiológicos aconteceram a cada 15 dias. Determinação de amônia, nitrito e nitrato, 2 vezes por semana. Para parâmetros microbiológicos foi observada a variação da população ao longo do cultivo, não havendo diferenças entre tratamentos. Para físico-químicos as curvas ficaram sobrepostas para T1 e T2 evidenciando não haver influência do probiótico. Estes parâmetros mantiveram-se dentro de níveis adequados para a espécie durante todo o ciclo. Os resultados de produtividade para T1 foram: 2417,6 kg/ha ( $\pm 478,82$ ), TCA de 1,89 ( $\pm 0,27$ ), sobrevivência de 82,3% ( $\pm 19,3$ ), peso médio final de 14,2 gr ( $\pm 0,72$ ). Para T2 os resultados foram respectivamente: 2444,6 kg/ha ( $\pm 498,53$ ), TCA de 1,98 ( $\pm 0,22$ ), sobrevivência de 83,0% ( $\pm 14,73$ ) e peso médio final de 13,8 gr ( $\pm 1,58$ ), não mostrando diferença estatística. Observou-se, nas condições do teste, que o probiótico não influenciou qualquer dos parâmetros medidos.

Palavras chaves: probiótico, aqüicultura, camarão, microbiologia.

---

\* Correspondência com autor: [paulojose@epagri.rct-sc.br](mailto:paulojose@epagri.rct-sc.br) Fone:04899062728

## 1- INTRODUÇÃO.

A produção mundial de camarão cultivado têm evoluído constantemente ao longo dos anos, sendo que em 2003 atingiu uma produção de 1.630.000 t (Rocha, 2004). Essa produção já representa 35,21% do total de camarão ofertado a nível mundial. Entre os principais produtores estão a China, Tailândia e Vietnã. O Brasil vem se destacando no ocidente com uma produção de 90000 t em 2003. Essa produção pode ser considerada expressiva quando analisada a evolução da produção que em 1999 era de apenas 15.000 t. Essa evolução permitiu ao Brasil passar a frente de produtores tradicionais da região como Equador e México. Destaca-se também que o Brasil é o país que apresenta a maior produtividade média (6084 kg/Ha/ano) seguido pela Tailândia com 4375 Kg/Ha/ano (Rocha 2003).

As exportações do camarão Brasileiro vêm aumentando continuamente. Passou de um valor de 12 milhões de dólares em 1999 para 210 milhões de dólares 2003 (ABBC) tornando-se uma importante fonte de divisas e geração de empregos em regiões consideradas das mais pobres do país ( Andreato, comunicação pessoal)

O rápido crescimento de uma atividade, inevitavelmente, proporciona o surgimento de uma série de problemas, decorrentes ou não deste crescimento. Com o crescimento da atividade da carcinicultura houve aumento na oferta a nível mundial, o que provocou a queda nos preços pagos aos produtores e ao mesmo tempo tem havido aumento nos custos de produção. Mesmo assim, os ganhos ainda compensam os investimentos, o que explica a expansão da área de produção.

O aparecimento de algumas doenças é outro problema que ocorre, como é o caso da Necrose infecciosa muscular (NIM). Essa doença apareceu em alguns estados brasileiros e tem sido responsável por altas mortalidades e queda de produções verificadas em viveiros. (revista ABCC, março 2004) A ação anti-dumping dos produtores americanos, ocorrida em 2004, provocou a queda de exportações para aquele país as quais passaram de 20,5 mil toneladas em 2003 para apenas 8,5 t em 2004. Em dezembro de 2004 a sobretaxa foi reajustada de 23,66% em agosto de 2004 para 10%. Com a redução desta taxa, o mercado americano volta a ser atraente para o produtor brasileiro (mercado da pesca, 2005). Por outro lado a desvalorização da moeda americana nos últimos meses é outro fator que poderá inibir exportações e comprometer a rentabilidade da atividade no Brasil.

O sistema de produção brasileiro é fundamentado na boa produtividade natural que é complementada com o uso de ração. A distribuição da ração é feita por bandejas, onde a



quantidade a ser fornecida é recalculada diariamente em função do consumo observado. Com isto evitam-se sobras que comprometeriam o ambiente de cultivo e aumentariam o custo de produção. Além disso, as fazendas adotam o monitoramento de parâmetros de qualidade da água, procedendo a medidas corretivas como a troca de água, ajuste de aeração e aplicação de insumos, como calcário, melaço, nitrato entre outros.

As densidades de cultivo normalmente estão entre 25 e 45 camarões por m<sup>2</sup>, com ciclo de cultivo de 90 a 120 dias, podendo-se obter até 3 safras anuais em estados do nordeste e 2 safras nos estados do sul do país. O Brasil é tipicamente um produtor de camarões pequenos com tamanho médio na colheita de 11 a 12 gramas

Com o crescimento da indústria, surgiu a oferta de inúmeros produtos com as mais diferentes finalidades. Entre esses produtos, alguns proporcionam vantagens ao produtor e outros tem efeito muito pequeno ou mesmo inexistente. Entre estes produtos ofertados no mercado, estão os probióticos que deveriam cumprir a tarefa de ajudar na reciclagem dos nutrientes no viveiro, manter a qualidade da água, melhorar a sobrevivência e a produção.

Um desses probióticos, o EM-4 foi utilizado em algumas fazendas do sul do Brasil, sendo que seu uso passou a ser geral na região, sem que houvesse qualquer comprovação científica da sua eficácia. De acordo com o manual do produto ele é constituído por um conjunto de microorganismos dos grupos das leveduras, bactérias ácido-láticas, e bactérias fototróficas. Cria um melhor balanço microbiano e pode ajudar a suprimir doenças e criar um ambiente eficiente pelo decréscimo no uso de antibióticos e químicos.

Bolores e leveduras são fungos, sendo bolores filamentosos e as leveduras unicelulares. São quimiorganotróficos, tendo importante papel na mineralização do carbono orgânico. Bactérias fototróficas utilizam a luz como fonte de energia, sendo que a grande maioria satisfazem suas necessidades de carbono a partir do CO<sub>2</sub> ( Madigan et al, 2004). As bactérias ácido-láticas são bacilos e cocos gram-positivos que produzem ácido láctico como principal ou único produto da fermentação (homofermentativo) ou etanol e CO<sub>2</sub> (heterofermentativas) e são anaeróbicas aerotolerantes ( Madigan et al, 2003). Este grupo de bactérias tem sido utilizado com sucesso em avicultura via ração (Garlich, 1999).

O crescimento de uma população microbiológica tem fases diversas, iniciando com fase lag onde as células se preparam para multiplicação, passando após à fase exponencial que é influenciada pelas condições ambientais e pelas características do organismo, atingindo após uma fase estacionaria onde se tem o Maximo de UFC/gr e após ocorre a fase de declínio (Madigan et al, 2003) .

De acordo com Verschuere et al (2000) probiótico é um suplemento microbiano vivo com efeitos benéficos para o hospedeiro, pela modificação de sua comunidade microbiana associada e para o ambiente de cultivo, assegurando melhoria no uso da alimentação e de seu valor nutricional, melhorando a resposta do hospedeiro a doenças e também a qualidade do ambiente. Probióticos podem controlar a ocorrência de microorganismos patogênicos e ou indesejáveis pela competição por nutrientes e atividades predatórias (Decamp et al, 2002)

O presente estudo se propôs a verificar o efeito do EM-4 como probiótico analisando a sua interferência sobre as bactérias mesófilas (em concentrações de 0,5 e 1,5% de NaCl), sobre as bactérias lácticas, bolores e leveduras, *vibrio* sp e bactérias coliformes termotolerantes. Foi também analisada a interferência do produto sobre os parâmetros físico-químicos e sobre os índices de produtividade dos viveiros.

Organismos mesófilos são os que apresentam crescimento ótimo em temperaturas entre 20 e 45°C (Madigan et al, 2003), sendo os aeróbicos recicladores de matéria orgânica.

Vibrios são patógenos oportunistas, ocorrendo como doenças secundárias a condições estressantes (Galli et al, 2001) e em alguns casos podem apresentar riscos a saúde pública como *V. Parahemolitico* (Barbieri e Ostrensky, 2002). Muitos são produtores de quitinases (Suginta et al, 2000), portanto capazes de digerir a quitina, um dos componentes do exoesqueleto do camarão. Coliformes a 45°C são indicativos utilizados para estimar *E.coli* devido a alta incidência desse microorganismo nesse grupo (Silva et al, 1997).

## 2 – MATERIAIS E MÉTODOS

O experimento de cultivo do camarão onde foi testado o probiótico EM-4 foi realizado na estação experimental Yakult-Universidade federal de Santa Catarina - Barra do Sul - SC, Brasil. Para os testes microbiológicos foi utilizado o laboratório de microbiologia do departamento de ciência e Tecnologia de Alimentos da UFSC em Florianópolis-SC. As coletas e medições aconteceram no período entre 03/02 a 03/06/2004, sendo que a parte laboratorial se estendeu até o mês de agosto 2004.

Para o experimento foram utilizados 6 viveiros de cultivo de solo natural com 1,25 ha como unidades experimentais, sendo que aleatoriamente foram definidos os tratamentos 1 ( com probiótico ) e 2 ( sem probiótico). Os viveiros de números 1, 3, 10 receberam adição do probiótico e os de números 2, 9, 11 não tiveram adição do produto. Essas unidades foram definidas por sorteio.

Para preparação os viveiros foram secados 30 dias antes do povoamento. Foi aplicado 1500 kg de calcário dolomítico/ha, e como fertilização 45 kg de nitrato e 7 kg de superfosfato triplo/ha. O povoamento foi realizado com juvenis de 3 gramas, transportados a seco, com densidade de cultivo de 21 camarões/m<sup>2</sup>.

Durante o cultivo procurou-se minimizar as trocas de água, que ocorreram nos dias 20/02 (30%), 28/02 (40%), 01/04 (40%), 19/04 (10%) e 05/05 (30%). O povoamento ocorreu em 29/01/2004 e as colheitas durante o mês de julho do mesmo ano. Os camarões foram alimentados 2 vezes ao dia no sistema de bandejas, com ração própria para a espécie contendo 35% de proteína. A salinidade média do cultivo foi de 15,5 ppt.

Para o preparo e aplicação do probiótico utilizou-se a mesma metodologia empregada nas fazendas de produção. Primeiramente, o produto passou por processo de ativação que consiste em diluir 1 litro do produto comercial juntamente com 0.5 litro de melaço em 8,5 litros de água. O recipiente plástico era fechado hermeticamente para fermentação a uma temperatura de 25°C a 30°C. Após fermentação (estufamento) o gás era retirado e aguardada novamente a fermentação, caracterizada por novo estufamento. Uma vez ativado os 10 litros eram colocados em 1000 litros de água, retirada dos viveiros, com mais 10 litros de melaço. Após 24 horas essa diluição era aplicada a uma razão de 300 litros por Ha, pela manhã, diariamente, durante todo o ciclo de produção..

Diariamente às 8:00 horas foram monitorados, o pH ( phmetro Máster Alfatecnoquímica), oxigênio dissolvido, temperatura, saturação de oxigênio ( YSI 55) e duas vezes por semana foram medidas as concentrações de amônia , nitrito , nitrato , (Alfakit® e fotocolorímetro solar SL 2 K)

As coletas para as análises microbiológicas foram realizadas quinzenalmente. Em cada viveiro era coletado material da interface solo – água em 3 diferentes pontos, utilizando-se tubos de PVC 6,3 PN 750 kPa, previamente autoclavados. As amostras eram etiquetadas e armazenadas em caixas térmicas e transportadas em ambiente climatizado (21°C) até o laboratório onde se procediam as análises microbiológicas.

No laboratório, as amostras de cada viveiro eram homogeneizadas e retiradas 25 gramas, que eram diluídas em 225 gramas de solução tampão fosfato salino e em seguida procedidas diluições decimais até 10<sup>-5</sup>. As análises foram realizadas em duplicata para cada diluição e de acordo com metodologia APHA 2001 e Silva et al 1997. Para coliformes foi utilizada a técnica do NMP (número mais provável) com 3 diluições e 3 repetições. Bactérias ácido – lácticas: semeadura em meio MRS com incubação a 30°C por 48 horas. Microrganismos mesófilos, 0,5 %

e 1,5 % de NaCl, semeadura em meio PCA com incubação a 35°C por 48 horas. Bolores e leveduras semeadura em meio PDA acidificado com incubação a 25°C por 72 horas. Para *Vibrios*, usou-se a técnica de semeadura de superfície em TCBS onde foram amostradas 5 colônias da diluição mais adequada e realizou-se as seguintes provas bioquímicas: crescimento em 3%, 6%, 8% de NaCl; oxidase; indol; motilidade; oxidação/fermentação; coloração em TCBS; coloração de gram e microscopia. Foi considerado *Vibrio* sp toda colônia que atendia as características descritas por Holt et al (1994) *apud* Silva et al (1997).

### 3 – RESULTADOS E DISCUSSÃO.

Nas figuras 1 a 5 são apresentados os gráficos com os resultados microbiológicos por coleta, comparando os 2 tratamentos com os respectivos resultados para ANOVA e teste Tukey e T. Os resultados demonstram não haver diferenças entre os tratamentos nas datas de coletas, apresentando apenas diferenças entre as diferentes coletas, em função da evolução da população bacteriana. A população de bactérias lácticas se manteve estável durante todo o período de cultivo, não apresentando variação no número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) durante o período de cultivo ( fig 1).

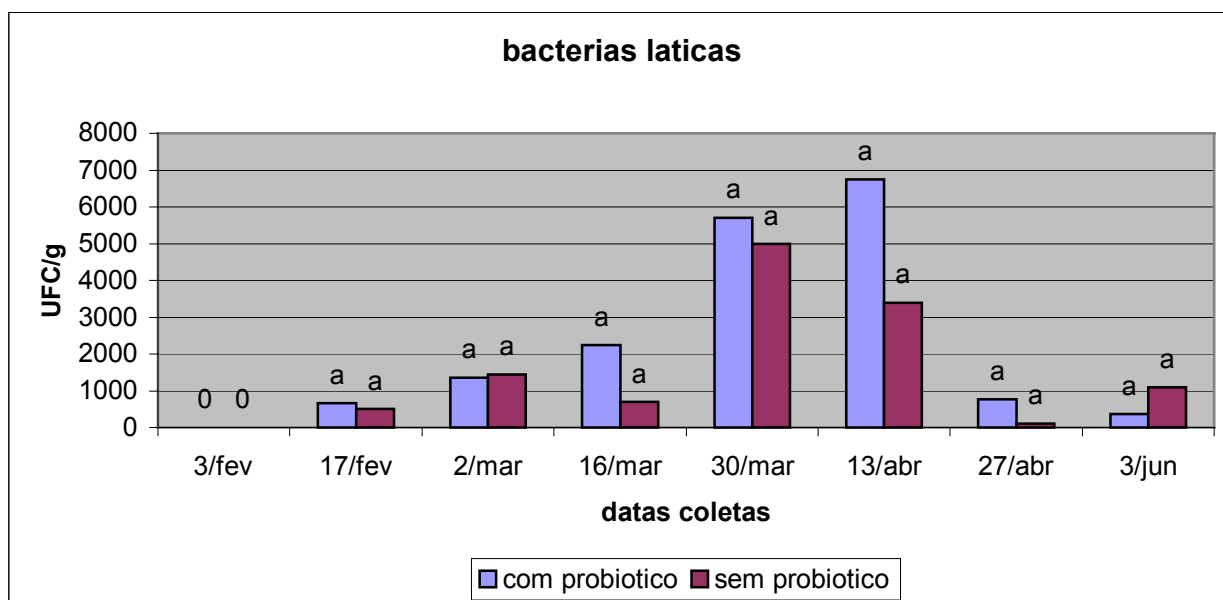


Fig. 1 – variação da população de bactérias lácticas durante o período de cultivo. Média de 3 viveiros para cada tratamento

Analizados através de ANOVA . Letras iguais mostram não haver diferenças entre médias.

UFC/g = unidades formadoras de colônias por grama. No dia 3 de fev não foi realizada análise.

Villamil et al (2003) realizaram experimento com adição de *Lactobacillus* para controle de *V.alginolyticus* em cultura *artemia* de onde obtiveram resultado positivo apenas para *L.brevis* em concentração  $1,0 \times 10^8$  bacteria por ml. No entanto Gatesoupe relata que bactérias acidoláticas aumentam a resistência para larvas de rodovalho, quando fornecidas via artêmia (Patra e Mohamed, 2003).

Para microrganismos mesófilos a 1,5 % de NaCl (fig. 2) houve variação na população durante o período de cultivo, mas não entre os tratamentos (0,05%) ocorrendo diferença estatística apenas na coleta 5 que corresponde ao dia 30/03/2004 passando de  $5,6 \times 10^5$  ufc/g (T1) e  $5,3 \times 10^5$  ufc/g (T2) para  $1,5 \times 10^6$  ufc/g e  $2,8 \times 10^6$  ufc/g respectivamente voltando após aos níveis anteriores.

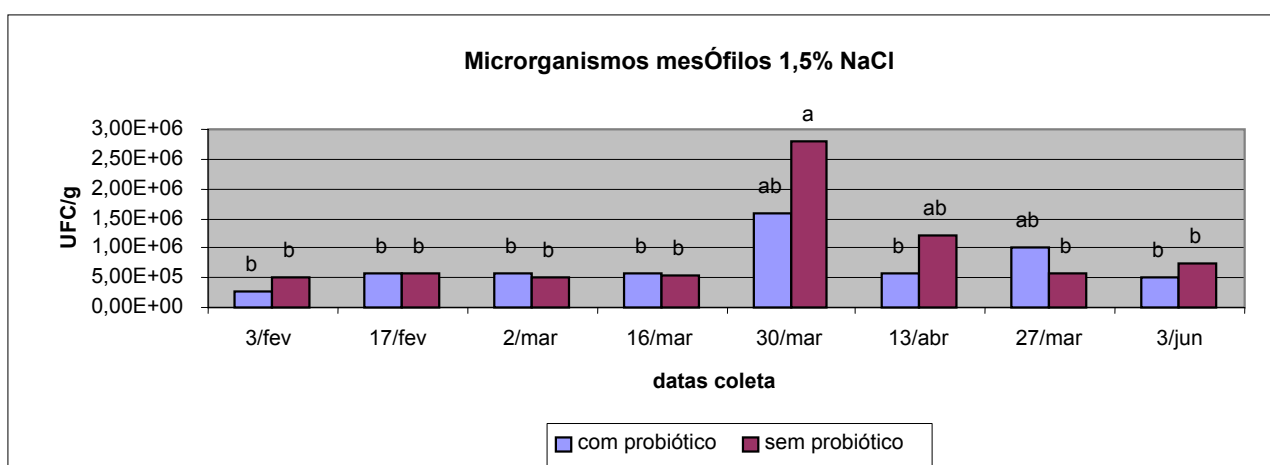


Fig. 2 – variação na população de microrganismos mesófilos a 1,5 % de NaCl durante o período de cultivo. Média de 3 viveiros para cada tratamento,. Analisados através de ANOVA. Letras iguais mostram não haver diferença entre médias.

UFC = unidades formadoras de colônias

O mesmo aconteceu para microrganismos mesófilos a 0,5 % de NaCl, como pode ser observado na fig. 3, os quais também não apresentaram variação entre os tratamentos (0,01%), apenas aumento nas ufc/g entre 16/03 e 30/03/2004 (0,01%) passando de  $2,0 \times 10^5$  ufc/g (T1) e  $5,0 \times 10^5$  ufc/g (T2) para  $1,4 \times 10^6$  ufc/g e  $2,4 \times 10^6$  ufc /g, respectivamente, voltando aos níveis anteriores durante o restante do cultivo.

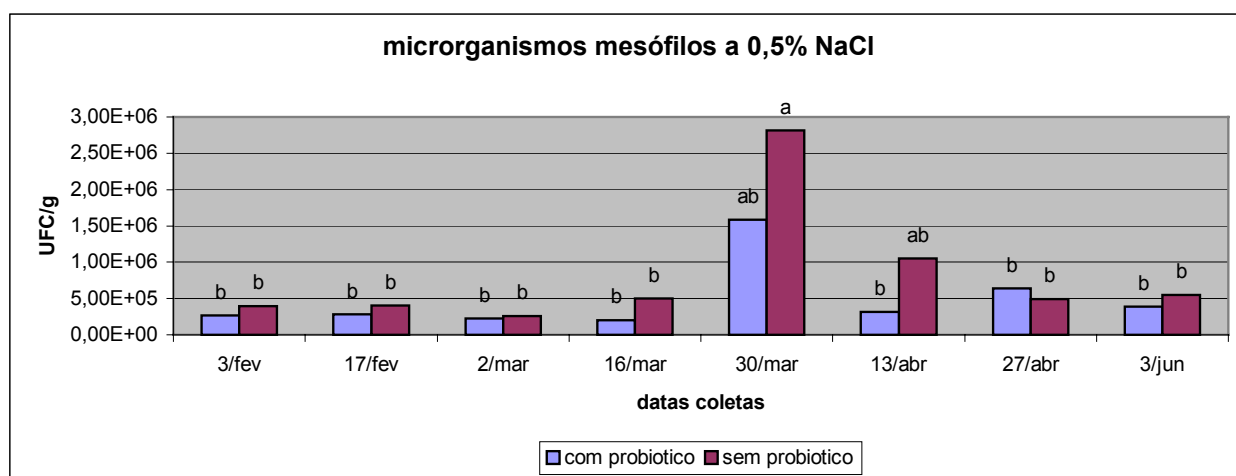


Fig. 3 – variação na população de microorganismos mesófilos a 0,5 % de NaCl durante o período de cultivo. Média de 3 viveiros para cada tratamento,. Analisados através de ANOVA. Letras iguais mostram não haver diferença entre médias.

UFC = unidades formadoras de colônias

A similaridade encontrada entre mesófilos a 0,5% e 1,5% de NaCl e entre os tratamentos sugere que o desenvolvimento dos microrganismos não depende da adição do probiótico e da concentração salina. O desenvolvimento similar encontrado para ambas as concentrações sugere adaptabilidade as diferentes salinidades que podem ocorrer durante o cultivo. O pico de desenvolvimento ocorrido na 5ª coleta (30/03/04) pode estar ligado a disponibilidade de nutrientes ou outra condição propícia necessitando maiores investigações. O fato da concentração de UFC/g ter permanecido na faixa de  $10^5$  durante a maior parte do período sugere que com manejo adequado possa-se manter a concentração desses microrganismos e manter a decomposição da matéria orgânica incorporada ao sistema durante o cultivo. Essas concentrações são similares as encontradas por Shariff et al (2001), onde a média para TPC (contagem total em placa) no sedimento, foram respectivamente,  $6,8 \times 10^5$  ufc/g e  $4,8 \times 10^5$  ufc/g para viveiros com e sem adição de probiótico. No entanto Devajara et al (2002) encontraram resultados diferentes, em estudo com 2 probióticos em camarão, tendo resultado em média de TPC maior para o produto 1 ( $1,2 \times 10^6$  ufc/g) em relação ao produto 2 ( $1,0 \times 10^6$  ufc/g) e controle ( $3,7 \times 10^5$  ufc/g). Nogami e Maeda (apud Gomez-Gil et al, 2000) usaram repetidas inoculações da cepa PM4 em larvicultura de caranguejo, mas o nível de bactérias não excedeu  $10^6$  ufc/ml. Isto foi atribuído pelos autores ao consumo, dessas bactérias, por protozoários. Outra possibilidade é a limitação do crescimento bacteriano por falta de nutrientes (Gómez-Gil et al, 2000). Abraham et al (2004) sugerem que o crescimento bacteriano está ligado a abundância de

nutrientes derivados dos excessos de alimentos, excreção do camarão e outras fontes de matéria orgânica.

Para bolores e leveduras (fig 4) foi encontrada diferença estatística entre momentos diferentes do cultivo (0,05 %), ocorrendo aumento nas ufc/g nas coletas de 17/02 e 02/03/2004, correspondendo ao primeiro mês de cultivo, sendo que este aumento foi maior nos viveiros onde não houve aplicação do probiótico, voltando posteriormente aos níveis iniciais. A ANOVA para os tratamentos mostrou não haver diferença entre eles (0,05%).

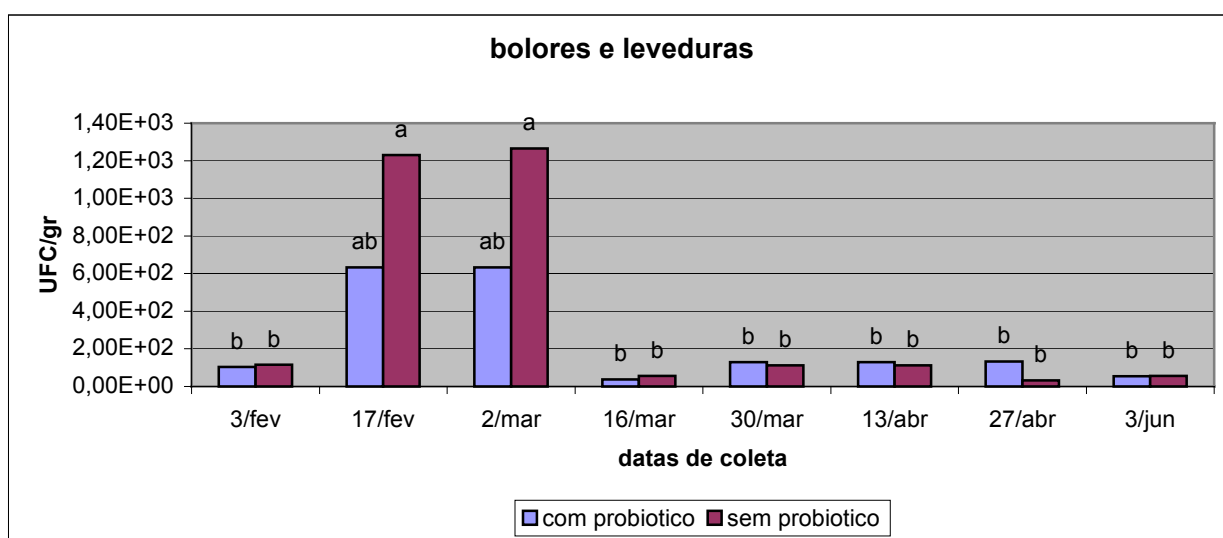


fig 4 — variação na população bolores e leveduras durante o período de cultivo. Média de 3 viveiros para cada tratamento,. Analisados através de ANOVA. Letras iguais mostram não haver diferença entre médias.

UFC = unidades formadoras de colonias

Leveduras foram utilizadas com sucesso quando fornecidas via ração em *L.vannamei*, melhorando a resistência em juvenis a vibriose (Irianto e Austin, 2002). No presente trabalho não houve indicadores positivos para leveduras. Em relação ao conteúdo de bolores e leveduras em solo de viveiro pouca literatura está disponível. Maiores pesquisas nessa área se fazem necessárias pela sua importância no fitoplâncton.

*Vibrio* sp (fig. 5) foi avaliado nas coletas dos dias 30/03 - 13/04 - 27/04 e 03/06/2004, havendo diferença significativa entre os tratamentos (0,01%) apenas na coleta do dia 27/04 para o tratamento com adição do probiótico que apresentou uma concentração de ufc/g maior que no tratamento sem adição do produto. Esta foi a maior concentração ocorrida durante as medições para essa bactéria.

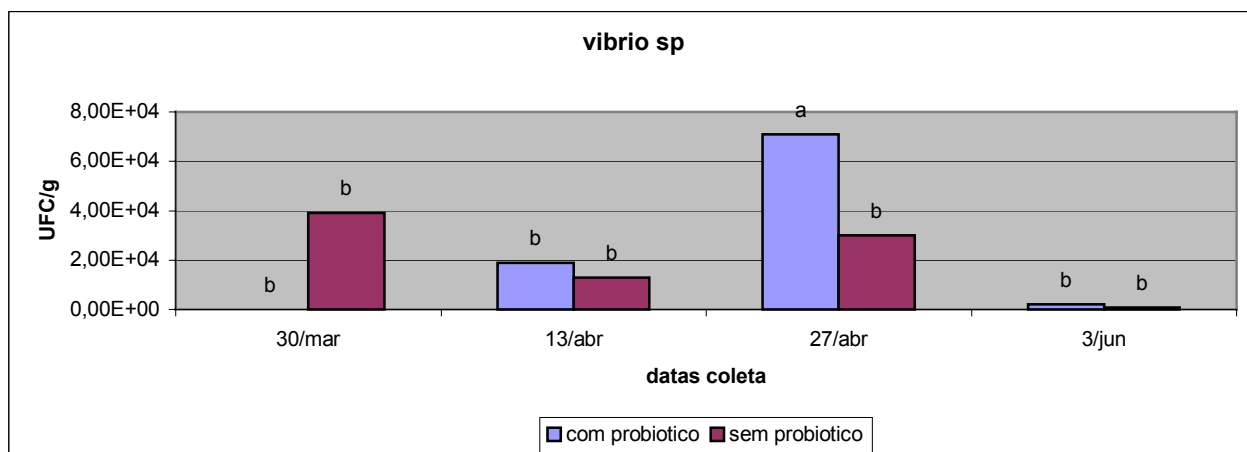


fig 5 – – variação na população *Vibrio* sp durante o período de cultivo. Média de 3 viveiros para cada tratamento,. Analisados através de ANOVA. Letras iguais mostram não haver diferença entre médias.

UFC = unidades formadoras de colônias.

Com aplicação do produto microbiano esperava-se um possível controle desse microrganismo bastante comum em viveiros. Os resultados obtidos mostraram diferença apenas na coleta do dia 27/04, onde a concentração de UFC/g foi estatisticamente superior nos viveiros que receberam o produto microbiano, sendo que neste período ocorreu mortalidade por vibriose nos viveiros 3 (com adição de probiotico) e 11 (sem adição de probiotico). Durante o resto do período mensurado não ocorreram diferenças nos números de UFC/g sugerindo a não ação do produto sobre a população de *vibrionaceas*. Utilizando 2 probióticos comerciais, em viveiros de camarão tigre, Devajara et al (2002) observaram um decréscimo na população de vibrio presuntivo durante o ciclo de cultivo, nos viveiros com tratamento de probiótico, em relação ao controle. No entanto em experimento conduzido por Shariff et al (2001), a adição de probiótico, também em viveiros de camarão tigre, não teve efeito sobre a população de vibrio presuntivo, medido no sedimento e na água.

Para coliformes a 45°C os resultados obtidos não permitiram análise estatística, porque as concentrações mantiveram-se menor que 3 NMP /g, com exceção do viveiro 10 na primeira coleta que apresentou 10 NMP/g e do viveiro 9 na terceira coleta com 9 NMP/gr, indicando claramente que os viveiros de produção não constituem bom ambiente para coliformes. Embora não exista legislação para coliformes em solo de viveiro de aquicultura, os números encontrados são baixos e não variaram durante o cultivo.

Na figura 6 podem ser observados os resultados dos parâmetros físico-químicos (amônia, nitrito, nitrato) observados durante o ciclo de cultivo. As curvas para T1 e T2 são sobrepostas indicando que não houve diferenças entre os tratamentos.



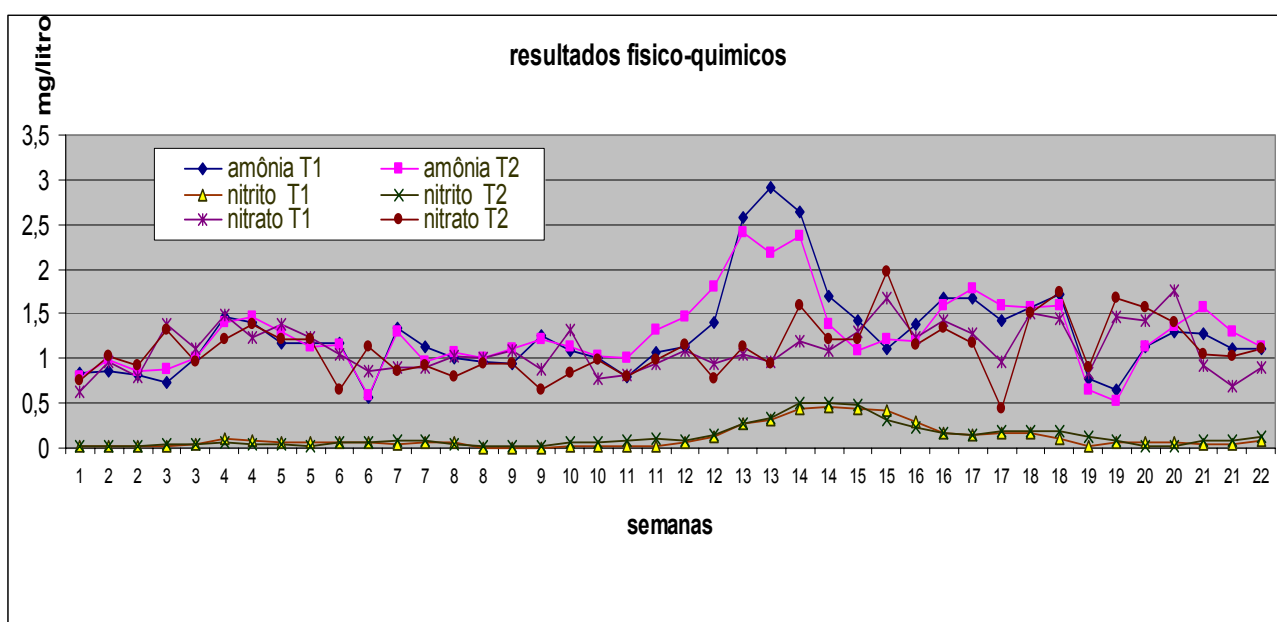


Fig 6 – evolução dos parâmetros físico-químicos durante as 22 semanas de cultivo.

T1-cultivo com adição de probiótico.

T2 cultivo sem adição de probiótico.

Não houve correlação entre mesófilos 1,5 % e conc de amônia, o que já era esperado, pois a amônia não é só excretada pelos microrganismos mas também pelos animais de cultivo.

A análise de correlação entre amônia e nitrito mostrou-se significativa, com  $r = 0,62$ , o mesmo ocorrendo para nitrito e nitrato com  $r = 0,38$

A amônia presente nos viveiros pode ter 3 diferentes origens: da entrada de água no viveiro, do subproduto do metabolismo (Chin and Chen, 1987, *apud* Boyd, 1999) e da decomposição de matéria orgânica (Boyd, 1995; Barbieri e Ostrensky, 2002). A amônia se apresenta nos viveiros em duas formas: a ionizada e não ionizada sendo esta última a principal responsável pela toxicidade aos animais. Esta toxicidade está diretamente definida pelo pH da água. Durante o experimento a amônia total variou entre 0,5 mg/l a 3 mg/l com pH matinal que variou entre 6,8 a 8,5 para os dois tratamentos, ficando portanto dentro dos limites de segurança, uma vez que de acordo com vários autores uma variação, para pH entre 7 e 9 é adequado para um bom crescimento do camarão (Tseng, 1998; Clifford, 1994; Boyd, 1992; *apud* Córdova e Cornejo, 1999) e para amônia menos de 3 mg/l é o desejável (Gautier e Boyd, 2001).

A oxidação do amônio leva a formação do nitrito, primeiro passo no processo de nitrificação. Jayasankar e Mathu (1983) citados por Arana (1997) recomendam como concentração segura de nitrito um nível de 0,33mg/litro. As medições realizadas para este parâmetro evidenciaram que

os níveis se mantiveram dentro desses valores durante a maior parte do cultivo, havendo variação para mais apenas no período entre 30/04 e 15/05.

O segundo passo da nitrificação leva a formação do nitrato, substância que pode degradar a qualidade da água do viveiro pela liberação de  $H^+$  e consumo de oxigênio durante a oxidação. A toxidez por nitrato não é considerada problema e por isso poucos trabalhos tem sido realizados para medir seu efeito (Arana,1997). O mesmo autor cita Colt e Armstrong (1981) os quais afirmam que a concentração de nitrato para a maioria dos animais aquáticos fica entre 1000 e 3000 mg/litro. Durante o cultivo as medições de nitrato indicaram uma flutuação entre 0,5 a 2,0 mg /litro, sendo este um índice considerado baixo por Gradba et all 1974 apud Arana. (1997).

O pico na concentração de amônia ocorreu entre os dias 23/04 e 30 /04 tendo decrescido rapidamente no dia 7/05 . Para o nitrito esse pico ocorreu entre 30/04 e 14/05 indicando uma alta eficiência no primeiro passo da nitrificação para ambos os tratamentos. Se observa na figura 6 que para o nitrato esse pico ocorreu entre os dias 7 e 21/05 com concentração máxima em 14/05 data em que a curva do nitrito estava em queda o que sugere também um boa eficiência no segundo passo da nitrificação em todos os viveiros.

A análise de correlação e regressão para esses 3 fatores, mostrou haver uma interdependência entre eles, sugerindo que durante todo o cultivo as bactérias nitrificantes foram eficientes para esse processo

Na despesca foram medidos os seguintes índices de produtividade: produção/Ha, taxa de conversão alimentar, sobrevivência e peso médio. Os resultados são apresentados na tabela 1. A análise estatística demonstrou não haver diferenças entre os tratamentos T1 e T2.

Tabela 1

Dados de produtividade ao final do cultivo.

Trat.	Dias de cultivo	produção/ha	T.C.A.	sobrevivência	peso medio
T1	167,7 (±5,0)	2417,6 Kg <sup>a</sup> (± 478,82)	1,89 <sup>a</sup> (± 0,27)	82,3 % <sup>a</sup> (±19,3)	14,2g <sup>a</sup> (±0,72)
T2	172,3 (±11,0)	2444,6 Kg <sup>a</sup> (±498,53)	1,98 <sup>a</sup> (±0,22)	83,0 <sup>a</sup> (±14,73)	13,8g <sup>a</sup> (±1,58)

TCA – taxa de conversão alimentar. Kg de camarão / kg ração

Densidade de cultivo: 21 camarões/ m<sup>2</sup>, para ambos os tratamentos.

T1 – com adição de probiótico. T2 – sem adição de probiótico.

Com adição do probiótico esperava-se uma melhor reciclagem de nutrientes, o que refletiria em uma melhor conversão alimentar. O consumo aparentemente elevado pode estar ligado ao período de cultivo, que foi maior que em anos anteriores.

A sobrevivência que entre outros fatores é dependente da sanidade do cultivo, também não foi afetada pelo uso do probiótico. Foram observadas mortalidades nos viveiros 3 e 11, sendo o primeiro com tratamento 1, e que consequentemente tiveram as menores sobrevivências, 62% e 75% respectivamente. A mortalidade foi consequência da presença de vibriose nesses viveiros. Uma boa eficiência do produto deveria ter impedido o estabelecimento de doenças no viveiro 3.

A produtividade em ambos os tratamentos foi considerada normal ou até acima da produtividade regional.

O uso de probióticos em viveiros de carcinicultura é crescente e controverso. Não há estudos conclusivos que venham a comprovar bons resultados para esta prática em viveiros de engorda. Estudos conduzidos por 20 anos na Universidade Auburn nos EUA confirmam esta hipótese, pois não demonstraram melhorias na qualidade da água e do sedimento em viveiros tratados com inóculos bacterianos (Boyd, 2004).

A ação de aditivos microbianos em viveiros de cultivo se torna complexa, pois o mesmo tem que disputar espaço com uma microbiota residente e amplamente distribuída no viveiro e que pode promover resistência a colonização de novas células. Concorre também o aporte de inóculo de bactérias quando a água é admitida ao viveiro no início e durante o cultivo. Essa microbiota admitida já está adaptada às condições locais se instalando mais facilmente que a adicionada via produto microbiano que, normalmente, é produzido em outras condições. Ao ser aplicado o probiótico dilui-se no meio de cultivo, o que faz com que a concentração de células adicionadas seja proporcionalmente pequena, em relação ao número de células das espécies residentes. Isso acarreta condições de concorrência desvantajosas dificultando sua implantação. A microbiota introduzida teria que ter elevada capacidade competitiva sendo obrigatório nesse caso um monitoramento constante do produto antes da aplicação, para evitar seu uso durante fase inadequada, o que diminuiria ainda mais sua eficiência. Além disso, tem que se considerar que cada microorganismo tem seu nicho ecológico primário onde tem um máximo de desenvolvimento e que uma distância de 3mm que parece mínima, para um microorganismo pode representar uma distância de 2 Km com diferentes gradientes físico-químicos que podem retardar ou impedir seu desenvolvimento (Madigan et al, 2003). Para se tornar viável teria que se adicionar o probiótico em altíssimas concentrações de UFC/ml e que garantisse, após diluição, uma concentração similar à aquela existente no ambiente o que permitiria a introdução

do inóculo com maior eficiência. Entretanto esse maior volume ou concentração certamente teria implicações práticas e econômicas que inviabilizariam o seu uso. Outra opção seria utilizar uma quantidade de produto muito alta o que também possivelmente não garantiria a eficiência devido a obrigatoriedade de concorrência com a microbiota já instalada. Estudos mostram que seu uso é possível, (Sotomayor e Balcazar, 2003 ; Gulliam e all , 2004) desde que a microbiota inicial antes da aplicação do produto seja controlada, ou então através da adição na ração onde o produto seria ingerido pelo animal e o processo seria diferente. Rengpipat et al (2000) obtiveram melhores sobrevivência e crescimento em *P. monodon* alimentado com *Bacillus s11*.

Acreditamos que a melhor maneira de manejar a microbiologia dos viveiros de cultivo de camarões seria através da adoção de praticas de manejo que visem facilitar a manutenção de uma microbiota desejável. Entre elas podemos citar a regulação da relação C/N, aeração para incorporação de oxigênio e manutenção das partículas em suspensão com intuito de evitar a formação de uma camada orgânica anaeróbica, aplicação de calcário para controle da alcalinidade, preparo adequado do solo antes da entrada da água e procurando obter um ambiente o mais homogêneo possível.

Portanto a microbiota de um viveiro parece não ser influenciada pela adição de produtos microbianos e sim pelo adequado manejo do viveiro.

#### 4 – CONCLUSÕES

Para as condições em que foram desenvolvidos os estudos podemos concluir que:

- Não há nenhuma relação entre a aplicação do probiótico testado e o crescimento microbiano da água e fundo do viveiro
- O produto não melhora os níveis de oxigênio e não reduz os níveis de amônia, nitrito e nitrato.
- O produto não é indicado para aplicação nos viveiros de cultivo, pelo menos nas condições em que é utilizado.
- O produto não mostrou vantagens sobre índices de produtividade, como ganho de peso, produção por ha, conversão alimentar e sobrevivência.

## 5 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA. American Public Health Association. Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 4<sup>th</sup> ed. APHA: Washington, 2001. 676 p.
- Abraham, J.T., Ghosh, S., Nagesh, T.S., Sasmal, D., 2004. Distribution of bacteria involved in nitrogen and sulphur cycles in shrimp culture systems of west Bengal, India. *Aquaculture* 239, 275-288
- Arana, L.V., 1997. Princípios químicos da qualidade da água em aquicultura: uma revisão para peixes e camarões. Ed.Ufsc. Florianópolis. 166 p.
- Barbieri Junior, R.C., Ostrensky Neto, A., 2002. Camarões marinhos – Engorda. Aprenda Fácil Editora. Viçosa-MG . 337pp
- Boyd, C.E., 2004. Probiotics enhancement of soil, water quality examined. *Global aquaculture advocate*. Volume 7, issue 2, 32-33
- Cordova, L.R.M., Cornejo, M.A.P., 1999. Engorda de camarones peneideos. Cultivo de camarones peneideos, princípios e praticas. 105-143. AGT editora, México.
- Decamp, O., Conquest, L. Forster, I. Tacon, A.G.J., 2002. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: roles of eukaryotic microorganisms. *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound aquaculture production systems*. World aquaculture society
- Devaraja, T.N., Yusoff, F.M., Shariff, M., 2002. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with comercial microbial products. *Aquaculture* 206, 245-256
- Galli, L., Barreto, H.M., Melo, L.M.R., 2001. Curso básico de bacteriologia –Natal RN
- Garlich, J.D., 1999. Microbiología del tracto intestinal aviar. XVI congreso latinoamericano de avicultura. Lima , Peru.
- Gautier, D., Boyd, C. E., 2001. Effluent water quality. *Global shrimp op*:2001
- Gomes-Gil, B., Roque, A., Turnbull, J.F., 2000. The use and selection of probiotic bacteria for use in the culture of larval aquatic organisms. *Aquaculture* 191, 259-270
- Gullian, M., Thompson, F., Rodriguez, J., 2004. Selection of probiotic bacteria and study of their immunostimulatory effect in *P. vannamei*. *Aquaculture* 233, 1-14
- Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of fish disease* 25. 633- 642
- Madigan, M.T., 2004. Microbiologia de Brock. Tradução e revisão técnica de Cynthia Maria Kiaw. Sao Paulo: prentice Hall, 608pp

- Patra, S.K., Mohamed, K.S., 2003. Enrichment of *artemia* nauplii with the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* and its resistance against a pathogenic *Vibrio*. *Aquaculture internacional* 11, 505-514
- Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatitivorakul, S., Menasaveta, P., 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*P.monodon*) by a probiont bacterium (*Bacillus s11*). *Aquaculture* 191. 271-288
- Rocha, I.P., Rodrigues, J., Amorim, L., 2004. A carcinicultura Brasileira em 2003. *Revista ABCC* ano 6, número 2.
- Rocha, I.P., 2004. Uma análise da oferta e demanda de camarões no mercado mundial, com destaque para os preços ao produtor e consumidor final- reflexos na carcinicultura Brasileira. *Revista ABCC* ano 6, número 3.
- Shariff, M., Yusoff, F.M., Devaraja, T.N., Srinivasa Rao, P.S., 2001. The effectiveness of a commercial microbial product in poorly prepared tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius), ponds. *Aquaculture Research* 32 , 181-187
- Silva, N., Junqueira, V.C.A., Silveira, N.F., 1997 Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos. Livraria Varela, São Paulo, 295pp
- Sotomayor, M.A., Balcazar, L. J., 2003. Inhibicion de vibrios patógenos de camaron por mezclas de cepas probióticas. *Revista aquatic* 19, 9-15
- Suginta, W., Robertson, P.A.W., Austin, B., Fry, S.C., Fothrgill-Gilmore, L.A., 2000. Chitinases from *vibrio* : activity screening and purification of chiA from *vibrio carcharie*. *Journal of applied microbiology* 89, 76-84
- Verschure, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstract, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews*, December vol 64 N4, 655-671
- Villamil, L., Fiqueras, A., Planas, M., Novoa, B., 2003. Control of *Vibrio alginolyticus* in artemia culture by treatment whit bacterial probiotic. *Aquaculture* 219, 43-56

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS DA INTRODUÇÃO

- Blackall, L.. L., Baiano, J.C. F, 2002. Microbial ecology of Australian prawn aquaculture systems-sediments, water, and water treatment. *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound a aquaculture production systems*. Lee, C.S., and O'Bryen, P editors. World aquaculture society, baton Rouge, Louisiana, United States.
- Decamp, O., Conquest, L. Forster, I. Tacon, A. G. J., 2002. The nutrition and feeding of marine shrimp within zero-water exchange aquaculture production systems: roles of eukaryotic microorganisms. *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound a*

- aquaculture production systems. Lee, C.S., and O'Bryen, P editors. World aquaculture society, baton Rouge, Louisiana, United States.
- Devaraja, T.N., Yusoff, F.M., Shariff, M., 2002. Changes in bacterial populations and shrimp production in ponds treated with comercial microbial products. *Aquaculture* 206, 245-256
- Douillet, P., 1997. Función y manejo de bacterias benéficas en acuicultura. *Anais IV congresso ecuatoriano de acuicultura*, Guayaquil. Ecuador,
- Figueredo, A. Agronegocios. *Gazeta mercantil* 24 de setembro 2003
- Garlich, J.D., 1999. Microbiología del tracto intestinal aviar. XVI congreso latinoamericano de avicultura. Lima, Peru
- Gatesoupe, F.J., 1999. The use of probiotic in aquaculture. *Aquaculture* 180, 147-165
- Horowitz, A., Horowitz, S., 2002. Os microorganismos e o manejo da alimentação na aquicultura. *Global aquaculture advocate*, Tradução ABCC
- Irianto, A., Austin, B., 2002. Probiotics in aquaculture. *Journal of fish disease* 25, 633-642
- Maeda, M., 2002. Microbial communities and their use in aquaculture. *Microbial approaches to aquatic nutrition within environmentally sound a aquaculture production systems*. World aquaculture society, Ceng-ShengLee and Pat O'Bryen editora. 187pp
- Moriarty, J.W.D., 1997. The role of microorganisms in aquaculture ponds. *Aquaculture* 155, issue 1-4, . 333-349
- Barbieri Junior, R.C., Ostrensky Neto, A., 2002. Camarões marinhos – Engorda. *Aprenda Fácil* Editora. Viçosa-MG . 337pp
- Verschure, L., Rombaut, G., Sorgeloos, P., Verstract, W., 2000. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture. *Microbiology and molecular biology reviews*, December vol 64 N4, 655-671
- Zamora, R., Rodriguez, A., Gurdíán, M., Osa, F., 2001. Experiencia em la produccion de camarón com prácticas sostenibles utilizando microorganismos eficaces en Jicaral, Península de Nicoya, Costa Rica. *Encuentro Nacional de Producción Sostenible y Manejo Ambiental*. Agosto 17-19, Costa Rica

